

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-172760 ←

(43)Date of publication of application : 26.07.1991

(51)Int.Cl. G01N 30/26
B01D 15/08

(21)Application number : 01-313942 (71)Applicant : SEKISUI CHEM CO LTD

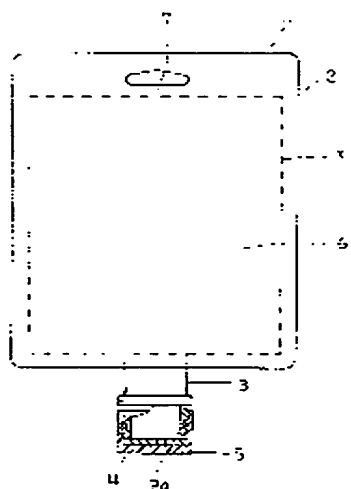
(22)Date of filing : 01.12.1989 (72)Inventor : KAWABE TOSHIKI
KAWAOKA TATSUHIKO

(54) MOBILE PHASE PACKED VESSEL AND MOBILE PHASE VESSEL FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY

(57)Abstract:

PURPOSE: To allow the use of a mobile phase vessel consisting of a soft flexible material having oxygen and steam transmission rates of specific values or below as it is for analysis and to prevent the concentration and air redissolving of the mobile phase under preservation and analysis by packing a deaerated mobile phase into this vessel.

CONSTITUTION: The vessel 2 having respectively $\leq 2\text{ml/m}^2\cdot\text{atom}\cdot 24\text{h}$, $2\text{g}/(\text{m}^2\cdot 24\text{h})$ oxygen and steam transmission rates and flexibility and a mobile phase takeout port 3 at one end are provided. This port is so constituted that a plug 5 can be fixed thereto



by means of screw threads 3a of the port and a sealing material 4. The air redissolving to the mobile phase during the preservation and use does not arise and the concentration of the mobile phase by the diffusion of the steam on the outside of the vessel 2 do not arise if the deaerated moving phase is packed into the vessel 2. The long-term preservation of the mobile phase and the stable maintenance of the compsn. thereof are thus possible. The shape of the vessel 2 changes according to the residual volume of the mobile phase on consuming of the mobile phase. Since the generation of the space to permit the permeation of steam and air is thereby obviated, the permeation of steam and air is prevented.

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-172760

⑪ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成3年(1991)7月26日

G 01 N 30/26

Z

7621-2G

B 01 D 15/08

6953-4D

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全6頁)

⑭ 発明の名称 液体クロマトグラフィー用の移動相充填容器及び移動相容器

⑮ 特 願 平1-313942

⑯ 出 願 平1(1989)12月1日

⑰ 発 明 者 川 辺 俊 樹 京都府京都市西京区下津林北浦町23番地の3

⑱ 発 明 者 川 岡 達 彦 大阪府高槻市松カ丘1丁目6番12号

⑲ 出 願 人 積水化学工業株式会社 大阪府大阪市北区西天満2丁目4番4号

明 細 書

1. 発明の名称

液体クロマトグラフィー用の移動相充填容器及び移動相容器

2. 特許請求の範囲

(1) 液体クロマトグラフィーにおいて移動相を保存するため及び分析に際しても用いるための容器であって、酸素及び水蒸気透過度が、それぞれ、 $2 \text{ ml} / (\text{ml} \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下及び $2 \text{ g} / (\text{ml} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下であり、かつ可撓性を有する軟質材を用いて構成された移動相容器と、該移動相容器内に充填されており、かつ予め空気を脱気された移動相とを備えることを特徴とする液体クロマトグラフィー用の移動相充填容器。

(2) 前記可撓性を有する軟質材が、アルミニウム層と、アルミニウム層を挟持するようにアルミニウム層の両側に積層された合成樹脂層とを有する複合積層材からなることを特徴とする請求項1に記載の液体クロマトグラフィー用の移動相充填容器。

(3) 前記アルミニウム層がアルミニウム箔である請求項2に記載の液体クロマトグラフィー用の移動相充填容器。

(4) 液体クロマトグラフィーにおいて移動相を保存するため及び分析に際しても用いるための容器であって、酸素及び水蒸気透過度が、それぞれ、 $2 \text{ ml} / (\text{ml} \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下及び $2 \text{ g} / (\text{ml} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下であり、かつ可撓性を有する軟質材を用いて構成されていることを特徴とする液体クロマトグラフィー用の移動相容器。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、液体クロマトグラフィーに用いる移動相充填容器に関し、特に、容器を構成する材料を改良することにより、保存性及び使用時の安定性が改良されており、かつ使用直前の脱気操作を省略し得る容器に関する。

〔従来の技術〕

液体クロマトグラフィー（以下、LCと略す）に用いる移動相用の保存容器の仕様は、移動相の

種類、分析対象物質の種類及び検出方法等により異なるが、何れの場合においても、(a) 移動相の組成が保存中に変化しないこと、並びに (b) 容器を構成している材料からの妨害物質が移動相中に溶け込まないものであることが要求される。

従来の移動相用保存容器は、上記のような観点から、硬質ガラス、テフロン、ポリエチレンまたはステンレス等の材料からなり、かつ一定形状の瓶またはクランクといった保形性を有する容器として構成されている。

ところで、LC による分析を行うに際しては、分析に先立って移動相中の気泡や移動相中に溶存している空気を除去する必要がある。移動相中に存在する気泡や溶存空気は、送液ポンプまたは検出器のフローセル等において分析上のトラブルの原因となるからである。例えば、送液ポンプのポンプヘッドに気泡が存在すると送液が不安定となったり、甚だしき場合には送液が不可能となったりすることがある。また、検出器のフローセル内に気泡が存在すると、該気泡によりベースライン

にパルス状のノイズが現れることになる。

従って、前述したような従来の保存容器を用いて、そのまま分析する場合には、分析に先立って移動相を脱気する必要がある。

移動相の脱気方法としては、超音波法、減圧法、加熱法、攪拌法及びヘリウム置換法等が知られている。実際の分析の場では、超音波法と減圧法とを併用する方法が簡便であり、かつ確実である。

しかし、従来の移動相は、上記のような方法によって脱気されても、分析時には、移動相が大気中に開放された状態で使用されるので、脱気後、時間の経過と共に空気が移動相に再度溶解していくという欠点がある。そこで、最近では、例えば、フッ素樹脂膜を用いた減圧法により脱気する自動脱気装置を分析系に組み込み、分析中常に脱気する方法が提案されている。このようにすると、移動相中への空気の再溶解によるトラブルを防止し得る。

また、移動相を保存容器から脱気のための専用の容器（貯槽）に移して脱気を行うこともある。

例えば、ヘリウムガスをバブリングし、溶存空気を液体に対する溶解度の小さいヘリウムに置換して脱気する方法（特開昭 62-167472 号）等が考案されている。

〔発明が解決しようとする課題〕

従来の保形性を有する一定形状の容器を移動相用保存容器として用い、分析に際しても該保存容器をそのまま用いる場合、以下のような問題があった。

すなわち、①分析の前に脱気操作が必要であること、②分析直前に脱気しても分析中に脱気しない場合は、脱気後、時間の経過と共に空気が再溶解していくこと、並びに③移動相が消費されるにつれて、容器内の空気で満たされた空間部分が広がるため、この空間部分に接している移動相の液面から移動相が蒸発し、移動相が濃縮されることといった問題があった。

また、分析系に移動相の脱気装置を組み込んだ構造では、空気の再溶解を避け得るものの、LC 装置が大型となり、かつコストがかなり高いもの

となる。

さらに、移動相を専用の容器に移して脱気を行う方法では、保存容器をそのまま用いて LC に掛けることができないため、操作が煩雑となる。

よって、本発明の目的は、上記のような従来の保存容器の種々の問題点を解決するものであり、分析直前や分析中に脱気操作を要することなく、保存に用いていた容器を、そのまま LC による分析に用いることができ、かつ保存中及び分析中における移動相の濃縮や移動相への空気の再溶解を確実に防止することが可能な移動相容器を提供することにある。

〔課題を解決するための手段〕

本発明では、移動相容器を、可視性を有する軟質材であり、かつ酸素及び水蒸気透過度が、それぞれ、 $2 \text{ ml} / (\text{ml} \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下及び $2 \text{ g} / (\text{ml} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下のもので構成し、さらに、この移動相容器に予め脱気された移動相を充填することにより、上記した従来の問題点が解決されている。

なお、酸素透過度は J I S Z-1707、水蒸気透過度は J I S Z-0208 に準じて測定される。

酸素及び水蒸気透過度が $2 \text{ ml} / (\text{m}^2 \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下及び $2 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下としたのは、それぞれ $2 \text{ ml} / (\text{m}^2 \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 及び $2 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ 時間})$ を超えると、外部の空気が移動相にかなりの割合で再溶解するからである。

なお、本発明においては、軟質材の空気の透過性を酸素の透過度で規定している。

本発明の移動相充填容器における可撓性を有する軟質材としては、酸素及び水蒸気の透過度が、それぞれ、 $2 \text{ ml} / (\text{m}^2 \cdot \text{atm} \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下及び $2 \text{ g} / (\text{m}^2 \cdot 24 \text{ 時間})$ 以下であり、使用する移動相に対して不活性なものであれば任意のものを用いることができる。一例を挙げると、アルミニウム箔またはアルミニウムを蒸着した樹脂フィルムからなるアルミニウム層の両側に、ポリエステル、ナイロン、ポリエチレン等の合成樹脂フ

ィルムをラミネートし、3層以上の複合積層材としたものが好適に用いられる。

アルミニウム層として、アルミニウム箔を用いる場合には、アルミニウム箔にピンホールが生じ難い厚みのものを選ぶ必要があり、少なくとも厚みが $7 \mu\text{m}$ 以上、好ましくは $15 \mu\text{m}$ 以上のものを用いることが好ましい。また、アルミニウム層にアルミニウムを蒸着した樹脂フィルムを用いる場合には、ベースとなる樹脂フィルムにより空気の透過度が異なるが、透過度を極力小さくするには、少なくともアルミニウムの蒸着厚みが $0.03 \mu\text{m}$ 以上、望ましくは $0.05 \mu\text{m}$ 以上のものを用いることが好ましい。

空気の透過度に関しては、アルミニウム箔の方がアルミニウムを蒸着した樹脂フィルムよりも優れている。従って、移動相の長期の保存が必要な場合には、アルミニウム層としてアルミニウム箔を用いた積層材を選択することが好ましい。

アルミニウム層に積層される樹脂フィルムのうち、移動相に接する容器内側の樹脂フィルムとし

ては、移動相に対して不活性なものであれば任意のものを用いることができる。また、外気に接する容器外側の樹脂フィルムについては、保存及び使用に際して、傷がつき難く、破れ難いものであればどのようなものを用いてもよい。

もっとも、アルミニウム層の両側に積層される各樹脂フィルムは、容器に可撓性を与えるのに十分な厚みのものを選択する必要がある。この合成樹脂フィルムの厚みについては、フィルムの材質によって硬さが異なるため、一義的には限定されないが、ポリエステルまたはナイロンの場合には $12 \mu\text{m}$ 程度、ポリエチレンを用いた場合には $20 \mu\text{m}$ 程度の厚みのものが好適に用いられる。

本発明の移動相充填容器の具体的な形状例を第1図を参照して説明する。移動相充填容器1は、上記のような可撓性を有する軟質材からなる容器本体2を有する。容器本体2の一端端には、移動相取出し口となる移動相取出し部材3が取り付けられている。移動相取出し部材3には、移動相を取り出すための孔が形成されており、外周面には

ねじ山3aが形成されている。そして先端にシール材4を介在させた状態で、栓5がねじ山3aを利用して固定されている。

なお、第1図の移動相充填容器1では、容器本体2は、可撓性を有する軟質材を貼り合わせるにより構成されており、破線Xで示す部分の外側において貼り合わされており、破線Xで示す部分の内側が移動相を充填する空間部分を形成しており、ここに予め脱気された移動相6が充填されている。破線Xの外側の領域には、移動相充填容器1を引っ掛けるための孔7が形成されている。

この孔7を利用して、LC分析に使用する際に容器1を吊り下げることができる。なお、容器1は覆かされた状態で用いてもよい。

〔作用〕

本発明の移動相充填容器の使用に際しては、まず任意の脱気方法により空気を除去された移動相を容器に充填する。移動相容器が、空気及び水蒸気の透過度が極めて小さい材料を用いて構成されているため、保存中や使用中における移動相への

空気の再溶解がほとんど生じず、また水蒸気が容器外へ拡散することによる移動相の濃縮も生じない。従って、移動相を長期間保存したとしても、移動相の組成が安定に保たれると共に、分析を始める前の再度の脱気操作を省略することができ、また LC 装置に脱気装置を組み込む必要もない。

また、移動相容器は可視性を有する軟質材で構成されているため、移動相が消費される場合、該消費に伴って移動相容器自体が残留移動相容積に応じて形状変化する。従って、移動相を蒸発させるような空間部分が移動相容器内に生じないため、移動相の蒸発による濃縮も起こり難い。また、空間部分が生じないため、移動相に溶け込む空気の混入も防止できる。

(実施例の説明)

実施例 1

容量が 1000 ml の第 1 図に示した移動相充填容器 1 を作成した。容器本体 2 を構成する材料は、外側から、厚み 12 μ m のポリエステル層、厚み 15 μ m のポリエチレン層、厚み 15 μ m のア

ルミニウム箔層、及び厚み 40 μ m のポリエチレン層からなる 4 層のラミネート膜である。このラミネート膜の酸素透過度は 1 ml / (ml · atm · 24 時間) 以下、水蒸気透過度は 1 g / (ml · 24 時間) 以下であった。移動相取出し口を有する移動相取出し部材はポリエチレンで構成されている。

より回転させるように構成した。測定に際しては、送液ポンプ 12 を駆動して移動相充填容器 1 内のリン酸緩衝液を溶存酸素測定用セル 13 に送り出し、溶存酸素測定用セル 13 内に送り込まれた移動相内の溶存酸素を、溶存酸素計 16 を用いて測定した。溶存酸素計 16 として、電気化学計器株式会社製、DOL-10 を用い、送液ポンプ 12 としては積水化学工業株式会社製 LCP-320 を用いた。測定に際し、移動相の流速は 0.5 ml / 分とした。その結果、移動相内の溶存酸素量は、液温 25℃ において 2.8 mg / L であった。

上記のリン酸緩衝液が充填された移動相容器 1 を、温度 30℃、相対湿度 20% の恒温・恒湿器に入れて、60 日間インキュベートした。しかる後、第 2 図に示した方法で再度、溶存酸素を測定した。結果、溶存酸素濃度は、2.8 mg / L (液温 25℃) となり、充填直後における前述した測定値と差が無かった。

また、インキュベート前後の容器の重量を測定したところ、重量の変動もまったく無いことが認

められた。

この移動相充填容器 1 に、デガッサー (積水化学工業株式会社製 OCU-520) を用いて、溶存酸素量が 3 mg / L (液温 25℃) 以下となるように脱気したリン酸緩衝液 (150 mM, NaH₂PO₄ · 2H₂O + 30 mM, Na₂HPO₄ · 12H₂O) を 1 リットル 充填し、充填容器とした。

充填直後の溶存酸素量を第 2 図に示す方法により測定した。すなわち、移動相充填容器 1 を、流路 11 を介して送液ポンプ 12 に接続し、送液ポンプ 12 の送り出し側を溶存酸素測定用セル 13 に接続した。溶存酸素測定用セル 13 内には回転子 14 を設け、マグネチック・スカーラー 15 に

められた。

インキュベート後の移動相を用い、ヒトヘモグロビンの LC 分析を行った。クロマトグラムを第 3 図に示す。LC 分析にあたっては、サンプルとして、蒸留水で全血を 300 倍に溶血希釈したものを用い、カラムとして積水化学工業株式会社製 ミクロネックス A1C-HS II、内径 6 mm × 長さ 75 mm を用い、カラム温度 40℃、流速 2 ml / 分とし、415 nm の吸光度で記録した。

比較例 1 として、第 1 図に示す移動相充填容器 1 と同じ寸法・形状を有し、但し厚さ 40 μ m の二軸延伸ポリプロピレン層及び厚さ 40 μ m の無延伸ポリプロピレン層の 2 層のラミネート膜からなる移動相容器を用意した。この 2 層ラミネート膜の酸素透過度は、850 ml / (ml · atm · 24 時間)、水蒸気透過度は 3 g / (ml · 24 時間) であった。このポリプロピレン移動相容器を用いて、実施例 1 の場合と同一の実験を行った。その結果、インキュベート前後の溶存酸素量は、それぞれ、2.8 mg / L (液温 25℃) 及び 1

2. 5 mg/L (液温 25℃) となった。すなわち、インキュベートの間に溶存酸素量が増大していくことが確かめられ、脱気する以前のレベルに戻っていることが認められた。

また、比較例の移動相容器について、インキュベート前後の容器の重量比を測定したところ、インキュベート後の移動相容器のインキュベート前の移動相容器に対する重量比が 94.1% であり、5.9 重量% 減量していた。さらに、インキュベート後の移動相を用いて、実施例 1 と同様にヒトヘモグロビンの LC 分析を行ったところ、第 4 図に示す結果が得られた。

上記ヒトヘモグロビンの LC 分析は、陽イオン交換を分離の原理とする例であり、実施例 1 についての第 3 図及び比較例 1 についての第 4 図の各結果を比べると、比較例 1 では水蒸気の蒸散による移動相の濃縮によりイオン強度が高くなり、ヘモグロビン分画の溶出が早くなっていることがわかる。

実施例 2

郵第一科学製、OM-6020 である。

実施例 2 の移動相容器の代わりに、比較例 2 のポリエチレン製容器を用いたこと、及びこの容器の口を大気開放したこと以外は、実施例 2 と同様にして溶存酸素量と浸透圧とを測定した。

以上の実験結果を下記の第 1 表に示す。下記の第 1 表から明らかなように、実施例 2 の移動相容器の場合には、溶存酸素量が 0.2 mg/L 増加したが、浸透圧には変化が見られないことがわかる。これに対して、比較例 2 のポリエチレン容器では、溶存酸素量が 2.4 時間後に 3.5 mg/L 増加し、浸透圧も 2% 増加したことがわかる。

比較例において溶存酸素量が増加したのは、外気に接している液面から空気が移動相に再溶解したことが原因であり、浸透圧が増大したのは、移動相中の水分が液面から蒸発し、濃縮されたことが原因であると考えられる。

(以下、余白)

実施例 1 と同様に移動相充填容器 1 を用いて、25℃における分析時の評価を行った。また、比較例 2 として細口のポリエチレン製容器 (容量 1 ℓ) を準備した。

実施例 1 において用いたのと同じの脱気したリン酸緩衝液 (150 mM, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 30 mM, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) を移動相として用意し、実施例 2 及び比較例 2 の容器に、このリン酸緩衝液を 1 ℓ ずつ充填し、充填容器を構成した。

この実施例 2 の移動相充填容器 1 を第 2 図の方法の装置に取付け、送液ポンプ 12 を 24 時間連続して駆動させ、移動相充填容器 1 内のリン酸緩衝液を溶存酸素測定用セル 13 内に送り込んだ。

移動相充填容器 1 における溶存酸素量を、充填直後及び 2.4 時間後に測定した。なお流速は 0.5 mL/分とし、2.4 時間の間、同一流速で送液を続けた。

また、溶存酸素量の測定と同時に、移動相の浸透圧を測定した。用いた浸透圧計は、株式会社京

第 1 表

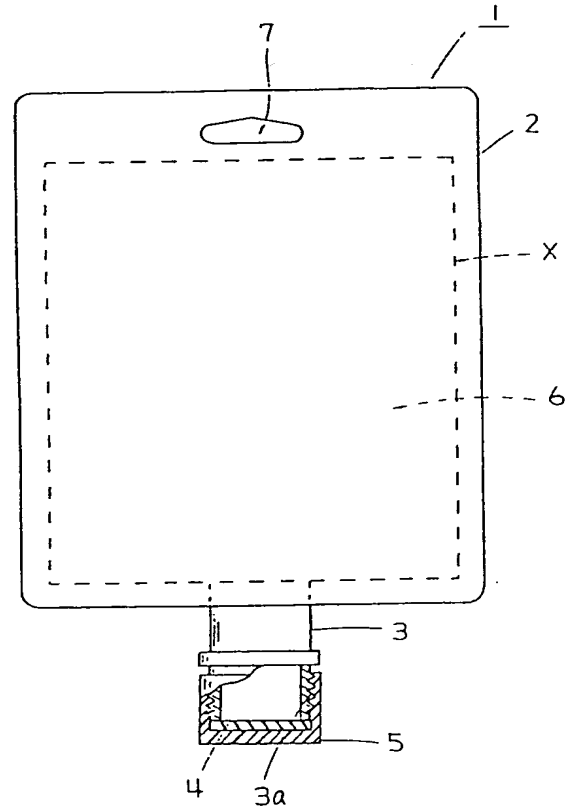
	充填直後		2.4 時間後	
	溶存酸素量	浸透圧	溶存酸素量	浸透圧
実施例 2	2.9	322	3.1	322
比較例 2	2.9	322	6.4	328

(但し、溶存酸素量の単位は mg/L、浸透圧の単位は mOsm)

(発明の効果)

本発明の移動相充填容器及び移動相容器は、可撓性を有する軟質材を用いて構成されており、かつ該軟質材が、酸素及び水蒸気の透過度が、それぞれ、 $2 \text{ mL}/(\text{mL} \cdot \text{atm} \cdot 2.4 \text{ 時間})$ 及び $2 \text{ g}/(\text{mL} \cdot 2.4 \text{ 時間})$ 以下と極めて小さい材質で構成されているため、保存中及び分析中における水分の蒸発による移動相の濃縮や移動相への空気の再溶解がほとんど生じない。従って、予め脱気した移動相を充填しておけば、分析直前の脱気操作を行うことなく、そのまま LC 装置に掛けて分析することができる。また、分析中に脱気する必要

第 1 図



もない。しかも、水分の蒸発による移動相の濃縮や移動相への空気の再溶解が生じ難いため、保持時間の変動や気泡発生に起因するトラブル等を効果的に防止することができる。

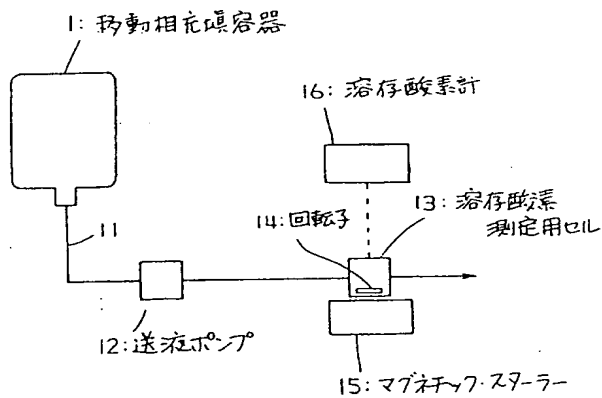
さらに、LC装置自体に脱気機構を組み込む必要もないため、LC装置の小型化・低価格化を期待することもできる。

4. 図面の簡単な説明

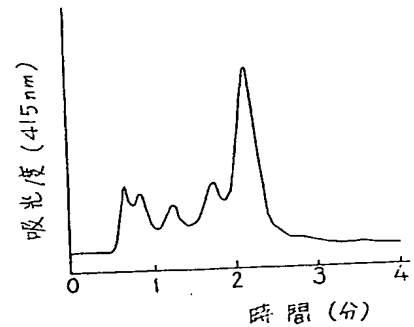
第 1 図は本発明の移動相容器の概略構成を示す図、第 2 図は溶存酸素量を測定する実験系を説明するための概略構成図、第 3 図は実施例 1 におけるクロマトグラムを、第 4 図は比較例 1 におけるクロマトグラムを示す図である。

特許出願人 横水化学工業株式会社

第 2 図



第 3 図



第 4 図

